

Personalisierte Medizin

Genetische Aspekte bei Alkoholismus

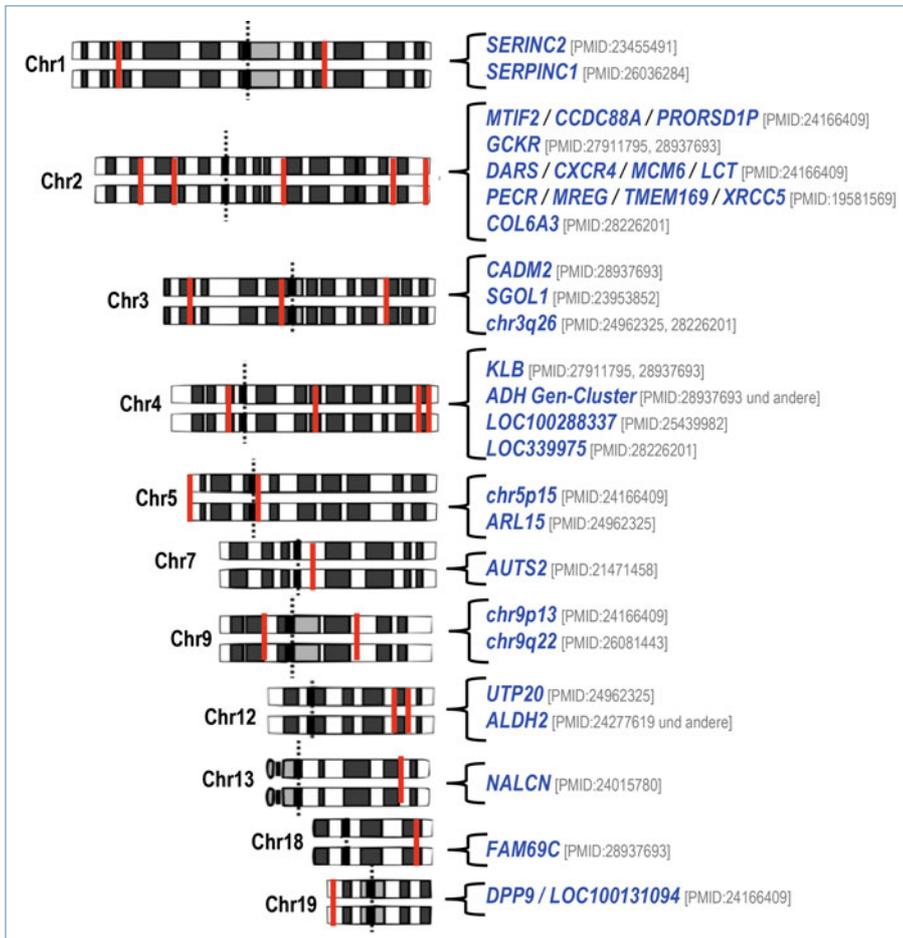
JENS TREUTLEIN¹, RAINER SPANAGEL²¹ ABTEILUNG FÜR GENETISCHE EPIDEMIOLOGIE IN DER PSYCHIATRIE, ZENTRALINSTITUT FÜR SEELISCHE GESUNDHEIT, MEDIZINISCHE FAKULTÄT MANNHEIM DER UNIVERSITÄT HEIDELBERG² INSTITUT FÜR PSYCHOPHARMAKOLOGIE, ZENTRALINSTITUT FÜR SEELISCHE GESUNDHEIT, MEDIZINISCHE FAKULTÄT MANNHEIM DER UNIVERSITÄT HEIDELBERG

Studies in twins demonstrate major genetic influences in the development of alcohol use disorders (AUD) such as addiction. Candidate studies and genome-wide association studies (GWAS) have identified numerous candidate genes for excessive alcohol consumption and AUD. Here we present a convergent functional genetics approach which is a translational methodology that integrates multiple lines of evidence from studies in human and animal models to get a better understanding of the genetics of AUD.

DOI: 10.1007/s12268-018-0916-7
© Springer-Verlag 2018

■ Weltweit konsumieren mehr als zwei Milliarden Menschen regelmäßig Alkohol. Fast 60 Millionen EU-Bürger betreiben schädlichen Alkoholkonsum und 23 Millionen Europäer leiden an Alkoholsucht. Die Weltgesundheitsorganisation benennt alkoholbedingte Erkrankungen (*alcohol use disorders*, AUD) als eine der wichtigsten Ursachen für die globale Belastung durch Krankheit (*global burden of disease; Global status report on alcohol and health 2014* der WHO, http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112736/1/9789240692763_eng.pdf). Wie kann es sein, dass der eine Alkoholkonsument abhängig wird und der andere jedoch nicht? Alkoholbedingte Erkrankungen und insbesondere Sucht sind das Ergebnis der kumulativen Wirkung durch wiederholte Alkoholexposition, von einwirkenden Umwelteinflüssen, und der genetischen Beschaffenheit eines Individuums [1]. Eine negative Konstellation dieser Faktoren bewirkt, dass einige Personen Alkohol trotz der Entwicklung von gesundheitlichen und sozialen Problemen weiter konsumieren und dass ein Teil von ihnen eine Alkoholsucht entwickelt.

Die Abhängigkeit ist bisher als Kombination verschiedener Krankheitszeichen definiert. Zu den Krankheitszeichen einer Alkoholabhängigkeit gehören unter anderem ein zwanghaftes Konsummuster, das Verlangen nach Alkohol (*craving*) und der Rückfall (*relapse*), der selbst noch nach jahrelanger Abstinenz auftreten kann. Es wird angestrebt, AUD über ihre pathobiochemischen Ursachen zu definieren, sobald diese identifiziert sind. Die Genetik kann hierfür erste Hinweise geben, wie wir im Folgenden zeigen.



◀ **Abb. 1:** Genomweit signifikante Einzelmarker ($P < 5E-08$), die durch genomweite Assoziationsstudien (GWAS) für Alkoholabhängigkeit und -konsum beim Menschen identifiziert wurden. Die entsprechenden (flankierenden) Gene sind in Blau angegeben. PMID: PubMed-Identifizier (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) der jeweiligen Referenz. Die Centromere der Chromosomen sind durch unterbrochene Linien gekennzeichnet. Die roten Balken zeigen die Position der jeweiligen Gene. Quelle: https://en.wikipedia.org/wiki/Human_genome.

Identifikation von Risikogenen

Die Identifikation von Genen, die zu AUD beitragen, ist von fundamentaler Wichtigkeit, da sie zum einen Hinweise auf die pathobiochemischen Ursachen geben, zum anderen zeigen sie an, welche potenziellen Substanzen als Wirkstoffe an den Zielproteinen oder beteiligten Reaktionswegen sinnvoll getestet werden können [2, 3]. Sowohl beim Menschen als auch im Tiermodell ist der genetische Beitrag zu AUD durch eine Vielzahl von Genen bedingt. Vermutlich betreffen die Anfälligkeitsgene biochemische Reaktionswege oder Signalketten (*pathway disease*, [4]), deren Dysregulation die pathobiochemische Ursache der Erkrankung bildet. Als Beispiel dafür können die Alkoholdehydrogenasen ADH1B/ADH1C und die mitochondriale Aldehyddehydrogenase ALDH2 dienen, die als Reaktionskette Alkohol oxidativ in der Leber über Acetaldehyd zu Acetat abbauen.

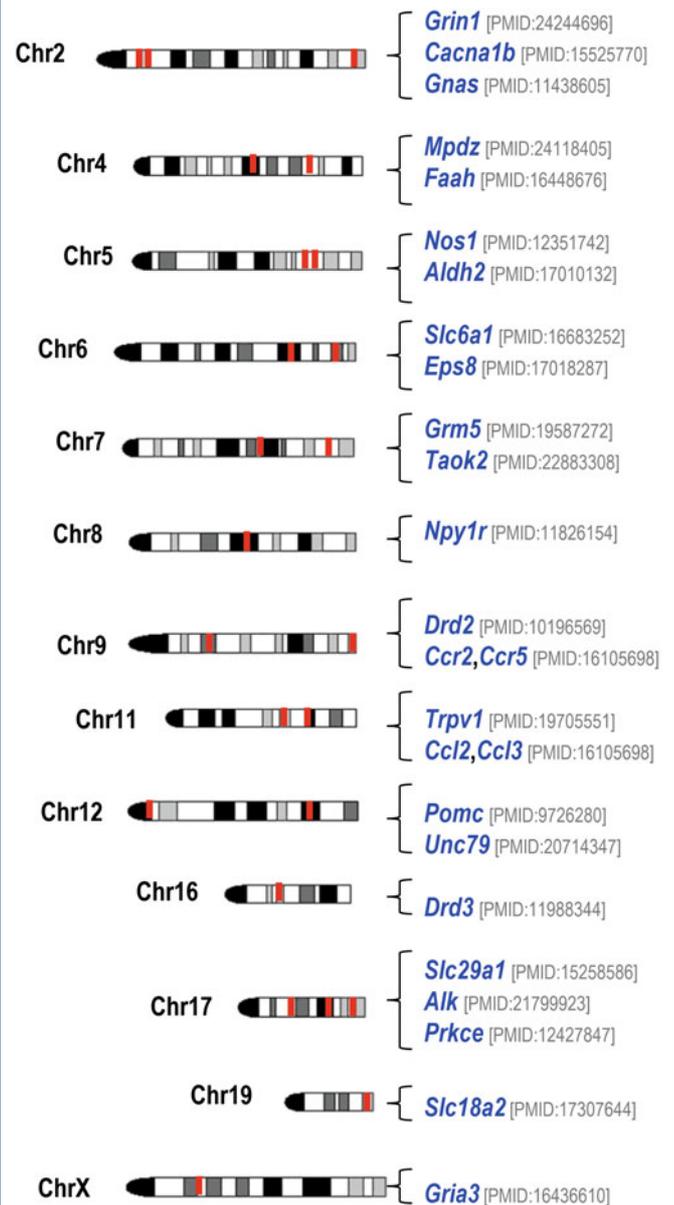
Im Gegensatz zu dieser Reaktionskette spielen die Genprodukte vieler anderer Anfälligkeitsgene nicht nur spezifisch für AUD eine Rolle, sondern gleichzeitig auch für andere Merkmale. Ein Beispiel dafür stellen die Komponenten des GABAergen Neurotransmittersystems dar. Substanzen, die auf diese Komponenten wirken, sind angst- und krampflösend. Da man wusste, dass das GABAerge System auch für AUD eine Rolle spielt, wurde der GABA-B-Rezeptor-Agonist Baclofen [5], der zuerst als krampflösendes Medikament eingesetzt wurde, auch für die Behandlung von AUD getestet [6]. Baclofen könnte, da es nur wenig durch die Leber verstoffwechselt und hauptsächlich unverändert über die Nieren ausgeschieden wird, für die Pharmakotherapie von AUD bei gleichzeitiger Leberzirrhose an Bedeutung gewinnen [7].

Durch systematische Studien am Menschen, die die natürlich auftretende genetische Variation ausnutzen, um Genotyp-Phänotyp-Korrelationen zu ermitteln (**Abb. 1**), und durch experimentelle Studien an Tiermodellen, bei denen einzelne Gene künstlich gezielt verändert wurden (**Abb. 2**), konnte mittlerweile eine Vielzahl von Anfälligkeitsgenen für AUD identifiziert werden.

Konvergierende funktionelle genetische Analyse

Die erfolgreichste Methode für die Auffindung von Anfälligkeitsgenen für AUD stellt die konvergierende funktionelle genetische Analyse über verschiedene Spezies hinweg dar (**Abb. 3**). Dies ist eine Kombination der beiden oben genannten Ansätze [8]: Die Signale aus

► **Abb. 2:** Gene (blau), die bei Mäusen für erhöhten Alkoholkonsum (<http://www.informatics.jax.org/mp/annotations/MP:0003545>) und für erniedrigten Alkoholkonsum (<http://www.informatics.jax.org/mp/annotations/MP:0003546>) identifiziert wurden. PMID: PubMed-Identifizier (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) der jeweiligen Referenz. Quelle: www.informatics.jax.org/silver/figures/figures5-2.shtml



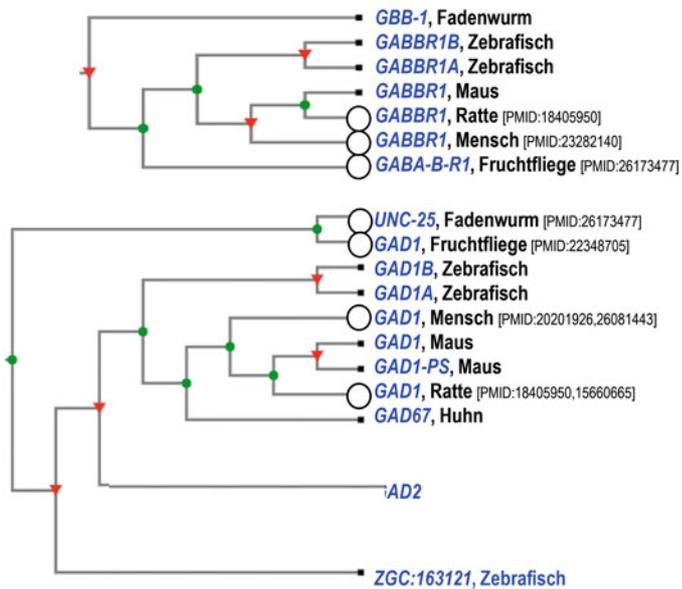
humangenetischen Studien werden dabei in einem zweiten Schritt in Modellorganismen, die viel stärkere Signale liefern, meist durch gezielte Genmodifikation (*loss or gain of function*) entweder validiert oder abgelehnt. Ein entscheidender Vorteil dieses Ansatzes ist darüber hinaus, dass das verwendete Tiermodell dann weiter als präklinisches Modell zum Testen von Substanzen verwendet werden kann, die auf das identifizierte Genprodukt oder seinen Reaktionsweg wirken. Der Prozess der Identifizierung durch diesen Ansatz soll im Folgenden im Detail dargestellt werden, anhand zweier durch diese Methodik erfolgreich identifizierter Gene.

In einer Metaanalyse von genomweiten Assoziationsstudien für Alkoholkonsum konnten wir eine Assoziation mit der genetischen Variante rs26907 im Gen *Ras protein specific guanine nucleotide releasing factor 2* (*RASGRF2*) identifizieren [9], das die Freisetzung von Dopamin beeinflusst. *RASGRF2*

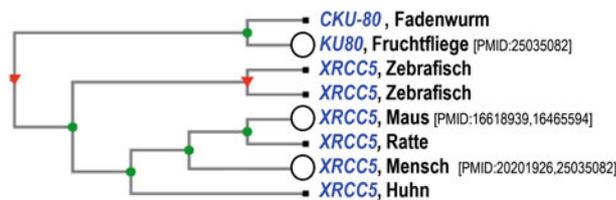
codiert für einen Calcium-regulierten Austauschfaktor, der die Signalproteine Ras (*Rat sarcoma*) und RAC1 (*Rac family small GTPase 1*) durch den Austausch von gebundenem Guanosindiphosphat durch Guanosintriphosphat aktiviert. Die Variante rs26907 liegt im *RASGRF2*-Gen in einem regulatorischen Motiv für den Transkriptionsfaktor Rad21 [10].

Der Neurotransmitter Dopamin ist entscheidend für die Funktion des Belohnungssystems, und die phasische Freisetzung führt zu einem Appetenzverhalten, sprich dem Alkohol zugewandten Verhalten. Zunächst wurden Mäuse untersucht, bei denen *Rasgrf2* deletiert worden war. Hatten Mutanten die freie Wahl zwischen Wasser und Alkohol, entwickelten sie auch durch Alkoholkonsum kein süchtiges Verhalten. In den Gehirnen der Mutanten ohne *Rasgrf2* im ventralen Striatum, einer suchtrelevanten Gehirnregion, wurde alkoholinduziert nur

GABAerges Neurotransmittersystem



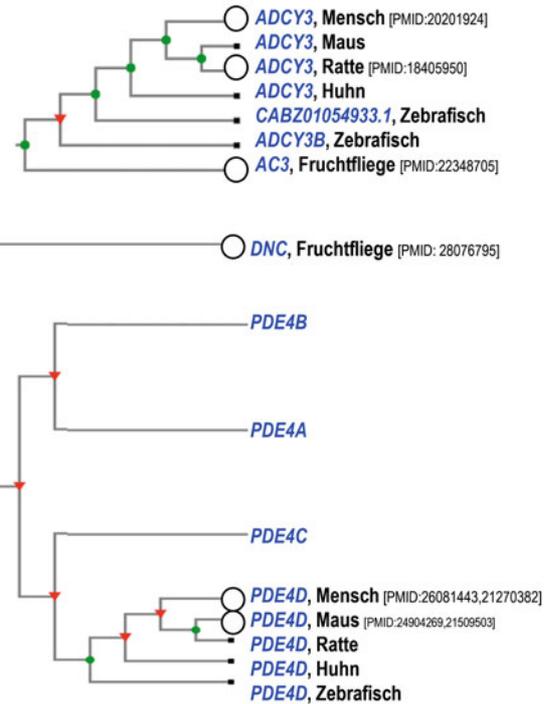
Doppelstrangbruchreparatur



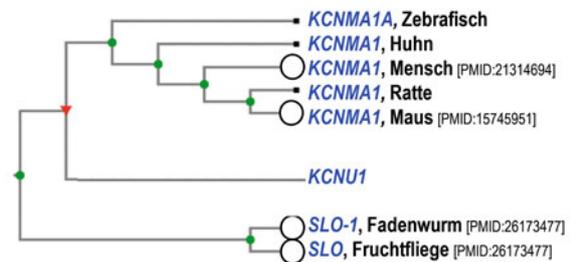
MAP-Kinase-Signaltransduktionsweg



cAMP Signalisierung



Kaliumkanal



▲ Abb. 3: Konvergierende funktionelle genetische Analyse in verschiedenen Spezies: Gene für Alkoholismus, die durch genomweite Assoziationsstudien beim Menschen mit Überlappung mit invertebraten und vertebraten Modellorganismen gewonnen wurden. Genbäume: EMBL/EBI-Treefam (www.treefam.org), grün: Speziation, rot: Duplikation. Bei *GABBR1* und *GAD1* handelt es sich um Komponenten des GABAergen Neurotransmittersystems. *ADCY3* und *PDE4D* spielen für die Signalübertragung durch zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) eine Rolle. PMID: PubMed-Identifizierer (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) der jeweiligen Referenz. Das Auffinden der Gene *RASGRF2* und *XRCC5* ist im Text detailliert beschrieben.

vermindert Dopamin freigesetzt. Die dadurch resultierende Dämpfung des Belohnungssystems bewirkte, dass den Mutanten der Anreiz zu einer Intensivierung des Alkoholkonsums fehlt. *Rasgrf2*-Wildtypmäuse dagegen erhöhten den Alkoholkonsum, ein Hinweis auf Suchtentwicklung. Eine nachfolgende Analyse von *RASGRF2* an 663 Jugendlichen der IMAGEN-Studie (<https://imagen-europe.com>), die spezifisch das Belohnungssystem untersucht, zeigte, dass Jugendliche mit einer starken Aktivierung häufiger Träger eines Haplotyps waren, der aus neun genetischen Varianten bestand und die gleiche Genvariante rs26907 in *RASGRF2* beinhaltete, die durch die erwähnte Metaanalyse für Alkoholkonsum anfänglich identifiziert wurde. Diese Jugendlichen

hatten im Vergleich zu Gleichaltrigen bereits Erfahrungen mit Rauschtrinken gemacht, was *RASGRF2* als Anfälligkeitsgen bestärkt (Abb. 3, [11]).

In einer weiteren genomweiten Assoziationsanalyse an alkoholabhängigen Personen und Kontrollprobanden führten wir eine reaktionswegbasierte Analyse durch und erhielten 19 nominell signifikante Reaktionswege, die sowohl klassische als auch neue Kandidatengene beinhalteten [12]. Das Gen *X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 5* (*XRCC5*) ist unter diesen Genen von besonderem Interesse, da es in mehreren der signifikanten Reaktionswege enthalten war und zusätzlich in einer Region liegt, über die bereits in früheren Kopplungsstudien zu Alkoholabhängigkeit berich-

tet wurde. Darüber hinaus zeigte sich, dass genetische Variation in diesem Gen mit dem Phänotyp „level of response to alcohol“ assoziiert ist, der ein Maß für die Alkoholsensitivität und einen Risikofaktor für die Entwicklung von AUD darstellt [13]. In Folgeanalysen konnten wir den Einfluss von *XRCC5* auf Risikofaktoren für Alkoholabhängigkeit sowohl in einem Invertebratenmodell (*Drosophila*) als auch in einem humanen Experiment mit intravenöser Alkoholselbstverabreichung an 85 gesunden Gelegenheitstrinkern bestätigen. Fruchtfliegen mit veränderter Funktion von *Ku80*, dem *Drosophila*-Ortholog zum *XRCC5* der Säugetiere, wiesen erniedrigte Sensitivität gegenüber Alkohol auf, was *XRCC5* als Anfälligkeitsgen validiert (Abb. 3) [12].

Der konvergierende funktionelle genetische Ansatz in verschiedenen Spezies führt zu einer überzeugenden Bestätigung von GWAS-Daten und insbesondere von Risikogenen, die durch einen Kandidatengenansatz gewonnen wurden.

Danksagung

Diese Publikation wurde gefördert vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF e:Med Programm SysMedAlcoholism 01ZX1311A).

Literatur

- [1] Spanagel R (2009) Alcoholism: a systems approach from molecular physiology to addictive behavior. *Physiol Rev* 89:649–705
- [2] Green G, Li Q, Roth BL et al. (2016) Translating genome-wide association findings into new therapeutics for psychiatry. *Nat Neurosci* 19:1392–1396
- [3] Sommer W, Spanagel R (Hrsg) (2013) *Behavioral Neurobiology of Alcohol Addiction*. Springer, Berlin
- [4] Sullivan PF, Daly MJ, O'Donovan M (2012) Genetic architectures of psychiatric disorders: the emerging picture and its implications. *Nat Rev Genet* 13:537–551
- [5] Hill DR, Bowery NG (1981) 3H-baclofen and 3H-GABA bind to bicuculline-insensitive GABA B sites in rat brain. *Nature* 290:149–152
- [6] Zindel LR, Kranzler HR (2014) Pharmacotherapy of alcohol use disorders: seventy-five years of progress. *J Stud Alcohol Drugs* 75 Suppl 17:79–88
- [7] Addolorato G, Leggio L, Ferrulli A et al. (2007) Effectiveness and safety of baclofen for maintenance of alcohol abstinence in alcohol-dependent patients with liver cirrhosis: randomised, double-blind controlled study. *Lancet* 370:1915–1922
- [8] Spanagel R (2013) Convergent functional genomics in addiction research – a translational approach to study candidate genes and gene networks. In *Silico Pharmacol* 1:18
- [9] Schumann G, Coin LJ, Lourdasamy A et al. (2011) Genome-wide association and genetic functional studies identify autism susceptibility candidate 2 gene (*AUTS2*) in the regulation of alcohol consumption. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:7119–7124
- [10] Roussotte FF, Gutman BA, Hibar DP et al. (2013) A single nucleotide polymorphism associated with reduced alcohol intake in the *RASGRF2* gene predicts larger cortical volumes but faster longitudinal ventricular expansion in the elderly. *Front Aging Neurosci* 5:93
- [11] Stacey D, Bilbao A, Maroteaux M et al. (2012) *RASGRF2* regulates alcohol-induced reinforcement by influencing mesolimbic dopamine neuron activity and dopamine release. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:21128–21133
- [12] Juraeva D, Treutlein J, Scholz H et al. (2015) *XRCC5* as a risk gene for alcohol dependence: evidence from a genome-wide gene-set-based analysis and follow-up studies in *Drosophila* and humans. *Neuropsychopharmacology* 40:361–371
- [13] Joslyn G, Ravindranathan A, Brush G et al. (2010) Human variation in alcohol response is influenced by variation in neuronal signaling genes. *Alcohol Clin Exp Res* 34:800–812

Korrespondenzadresse:

Zentralinstitut für Seelische Gesundheit
Medizinische Fakultät Mannheim der Universität
Heidelberg, J5
D-68159 Mannheim

Dr. Jens Treutlein
Abteilung für Genetische
Epidemiologie in der Psychiatrie
Tel.: 0621-1703-6093
jens.treutlein@zi-mannheim.de

Prof. Dr. Rainer Spanagel
Institut für Psychopharmakologie
Tel.: 0621-1703-6251
rainer.spanagel@zi-mannheim.de

AUTOREN



Jens Treutlein

1992–1998 Biologiestudium in Heidelberg. 1999–2002 Doktorarbeit (PhD) am Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie (IPMB), Universität Heidelberg. 2002–2003 Postdoc am Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie, Universität Heidelberg. Seit 2004 wissenschaftlicher Mitarbeiter im molekular-genetischen Labor, Abteilung Genetische Epidemiologie in der Psychiatrie, Zentralinstitut für Seelische Gesundheit, Mannheim.



Rainer Spanagel

1982–1989 Biologiestudium in Tübingen und München. 1989–1991 Doktorarbeit (PhD) am Max-Planck-Institut (MPI) für Psychiatrie, Martinsried (Abteilung Neuropharmakologie). 1991–1995 Postdoc am MPI für Psychiatrie, Klinisches Institut, München. 1996–1999 Leiter der Arbeitsgruppe Suchtforschung am MPI für Psychiatrie. 1996–1997 Habilitation an der LMU München. 2000–2011 Professur für Psychopharmakologie und Abteilungsleiter der Psychopharmakologie am Zentralinstitut für Seelische Gesundheit, Mannheim; dort seit 2011 wissenschaftlicher Direktor des Instituts für Psychopharmakologie.